

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2024 年 12 月 12 日 (12.12.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/250133 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 9/107 (2006.01) **A61P 11/00** (2006.01)
C07C 213/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/098249

(22) 国际申请日: 2023 年 6 月 5 日 (05.06.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 安徽医科大学第一附属医院 (**FIRST AFFILIATED HOSPITAL OF ANHUI MEDICAL UNIVERSITY**) [CN/CN]; 中国安徽省合肥市蜀山区绩溪路218号, Anhui 230022 (CN)。

(72) 发明人: 丁圣刚(**DING, Shenggang**); 中国安徽省合肥市蜀山区绩溪路218号, Anhui 230022 (CN)。傅玲(**FU, Ling**); 中国安徽省合肥市蜀山区绩溪路218号, Anhui 230022 (CN)。霍绍虎(**HUO, Shaohu**); 中国安徽省合肥市蜀山区绩溪路218号, Anhui 230022 (CN)。聂旋(**NIE, Xuan**); 中国安徽省合肥市蜀山区绩溪路218号, Anhui 230022 (CN)。

(74) 代理人: 中科专利商标代理有限责任公司(**CHINA SCIENCE PATENT & TRADEMARK AGENT LTD.**); 中国北京市海淀区西三环北路 87 号 4-312 室, Beijing 100089 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN,

MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) **Title:** LUNG-TARGETED NANO-MICELLE, AND PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 肺靶向纳米胶束、制备方法及应用

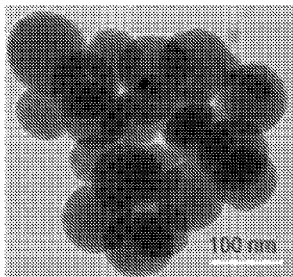


图 8

(57) **Abstract:** Provided are a lung-targeted nano-micelle, and a preparation method therefor and the use thereof, wherein the lung-targeted nano-micelle comprises: a permanent cationic lipid, a pH responsive lipid, and a phenylboronic acid-modified cationic lipid. The molar ratio of the permanent cationic lipid, the pH responsive lipid and the phenylboronic acid-modified cationic lipid is X:(3-X):1, wherein X=1-2, such that the nano-micelle is regulated to target a lung.

(57) 摘要: 提供一种肺靶向纳米胶束、制备方法及应用, 其中, 肺靶向纳米胶束包括: 永久性阳离子脂质, pH响应性脂质, 以及苯硼酸修饰的阳离子脂质; 永久性阳离子脂质、pH响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质的摩尔比例为X: 3-X: 1, 其中X=1~2, 使得纳米胶束被调控为靶向肺部。

WO 2024/250133 A1

肺靶向纳米胶束、制备方法及应用

技术领域

本公开属于生物医药和分子生物学技术领域，涉及一种肺靶向纳米胶束、制备方法及应用。

背景技术

肺部疾病是威胁人类生命和健康的常见疾病之一，细菌性肺炎是常见肺部疾病，雾化及口服给药患者依从性差，治疗效果欠佳；另外，静脉用抗生素是较为有效的治疗手段，然而多重耐药菌的出现以及抗生素治疗给药面临靶向性差、利用率低、肺部驻留时间短等问题，无法实现肺部靶向，从而导致治疗效果差，且高剂量频繁使用抗生素会导致耐药性产生，并带来一系列毒副作用，如：肝肾毒性和肠道菌群失调等。因此，开发一种实现肺部靶向的纳米胶束在治疗肺部疾病中具有重要临床实际意义。

发明内容

针对上述技术问题，本公开提供了一种肺靶向纳米胶束、制备方法及应用，以期至少部分地解决上述提及的技术问题。

为了解决上述技术问题，本公开提供的技术方案如下：

作为本公开的第一个方面，提供了一种肺靶向纳米胶束，包括：

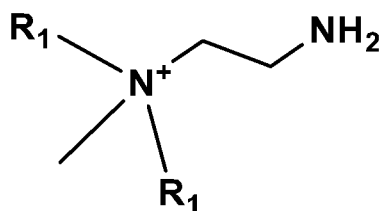
永久性阳离子脂质；

pH 响应性脂质；以及

苯硼酸修饰的阳离子脂质；

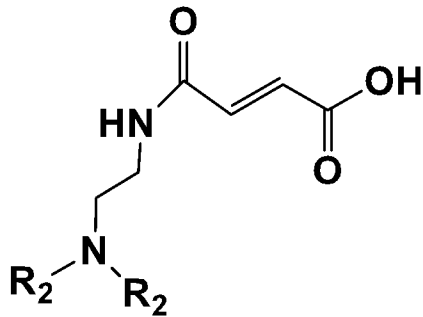
其中，永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质的摩尔比例为 X: 3-X: 1，其中 X=1~2，使得纳米胶束被调控为靶向肺部。

在其中一个实施例中，永久性阳离子脂质具有式 I 所示结构：



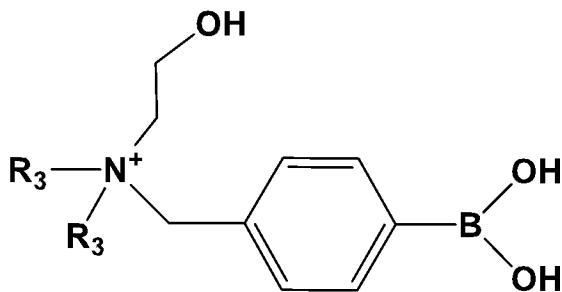
式 I，其中，R₁ 为 C12~C18 的烷基。

在其中一个实施例中，pH 响应性脂质具有式 II 所示结构：



式 II, 其中, R_2 为 C12~C18 的烷基。

在其中一个实施例中, 苯硼酸修饰的阳离子脂质具有式 III 所示结构:



式 III, 其中, R_3 为 C12~C18 的烷基。

在其中一个实施例中, 肺靶向纳米胶束的平均粒径为 95.44 ± 17.26 nm。

在其中一个实施例中, 肺靶向纳米胶束的 Zeta 电位为 $-21.49 \sim +20.91$ mV。

作为本公开的第二个方面, 提供了一种制备上述的肺靶向纳米胶束的方法, 包括:

将永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质混合溶解到有机溶剂中, 得到混合液;

除去混合液中的有机溶剂以形成脂质薄膜, 并对脂质薄膜进行干燥, 得到干燥后的脂质薄膜;

用超纯水水合处理干燥后的脂质薄膜, 得到脂质悬浮液后, 对脂质悬浮液进行水浴超声处理, 形成肺靶向纳米胶束。

在其中一个实施例中, 有机溶剂包括甲醇、三氯甲烷中的至少一种。

在其中一个实施例中, 除去有机溶剂的方法为减压旋蒸, 减压旋蒸的转速为 80~150 rpm, 减压旋蒸的温度为 30~60℃;

真空干燥的温度为 20~30℃, 真空干燥的时间为 1.5~5 h;

超声处理的频率为 30~60 kHz, 超声处理的时间为 1~10 min。

作为本公开的第三个方面, 提供了一种药物组合物, 包含上述肺靶向纳米胶束, 作为药物载体。

作为本公开的第四个方面, 提供了一种上述肺靶向纳米胶束在制备用于治疗肺部疾病的药物中的应用。

在其中一个实施例中，肺部疾病为肺炎。

本公开提供的肺靶向纳米胶束、制备方法及应用，由永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质和苯硼酸修饰的阳离子脂质三种脂质构建肺靶向纳米胶束，通过调节永久性阳离子脂质的比例，可以调控纳米胶束的表面电荷性质，随着永久性阳离子脂质比例的变化，纳米胶束的表面电荷由负到正变化，可以增加对靶向肺部微环境蛋白的吸附，实现针对肺部的靶向递送。可用于呼吸系统，为实现药物在肺组织的靶向递送提供了潜在的机会，减少药物的使用剂量，有效降低药物治疗对其他组织的毒副作用，表现出较大的临床应用前景。

附图说明

图 1 为本公开实施例 1 中永久性阳离子脂质和 pH 响应性脂质的合成示意图；

图 2 为本公开实施例 1 中苯硼酸修饰的阳离子脂质的合成示意图；

图 3 为本公开实施例 1 中永久性阳离子脂质的电喷雾电离质谱（ESI-MS）图；

图 4 为本公开实施例 1 中 pH 响应性脂质的电喷雾电离质谱（ESI-MS）图；

图 5 为本公开实施例 1 中苯硼酸修饰的阳离子脂质的电喷雾电离质谱（ESI-MS）图；

图 6 为本公开实施例 2 中肺靶向纳米胶束的粒径图；

图 7 为本公开实施例 2 中肺靶向纳米胶束的 Zeta 电位图；

图 8 为本公开实施例 3 中肺靶向纳米胶束的透射电子显微镜（TEM）图；

图 9 为本公开实施例 3 中肺靶向纳米胶束的粒径稳定性测试图；

图 10 为本公开实施例 3 中肺靶向纳米胶束的 Zeta 电位稳定性测试图；

图 11 为本公开实施例 4 中 DiD 荧光标记的肺靶向纳米胶束的成像分布图；

图 12 为本公开实施例 4 中 DiD 荧光标记的肺靶向纳米胶束的激光扫描共聚焦显微镜（CLSM）图。

具体实施方式

为使本公开的目的、技术方案和优点更加清楚明白，以下结合具体实施例，并参照附图，对本公开作进一步的详细说明。

目前，具有两亲性结构的脂质体被广泛应用于药物载体中，由于良好的可设计性使其能很好地靶向递送并持续的释放负载药物，增强药物的毒副作用，优化其药代动力学。然而，传统的脂质体进入血液后会大量吸附天然的免疫球蛋白 M（IgM），加剧机体免疫系统对脂质体的识别而富集在肝脾，故而大部分脂质体运输的药物主要富集在肝脾部位，无法有效输送到靶器官。

在实现本公开的过程中发现，相关技术通过调节磷脂、胆固醇、聚乙二醇修饰的脂质体和阳离子脂质体比例可以制备一系列具有不同表面电荷的核酸复合物，调整阳离子脂质体的比例可以实现核酸复合物对不同器官的靶向递送，随着阳离子脂质体比例的变化，运送的荧光素酶能选择性的在肝脏、脾脏与肺部表达。然而，相关技术对肺部靶向递送仅仅出现在基因治疗领域，用于肺部的靶向递送药物鲜有报道。鉴于相关技术中存在的技术问题，本公开提供了一种由永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质和苯硼酸修饰的阳离子脂质组成的肺靶向纳米胶束，通过调节脂质体的组成比例，尤其是永久性阳离子脂质体在胶束中的比例，能够实现肺部的靶向递送。

为了实现以上技术目标，作为本公开的第一个方面，提供了一种肺靶向纳米胶束，包括：

永久性阳离子脂质；

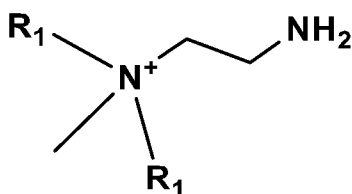
pH 响应性脂质；以及

苯硼酸修饰的阳离子脂质；

其中，永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质的摩尔比例为 X: 3-X: 1，其中 X=1~2，使得纳米胶束被调控为靶向肺部。

根据本公开的实施例，永久性阳离子脂质用于调控纳米胶束的表面电荷，从而调控电荷对血液中蛋白的吸附性能；pH 响应性脂质为具有 pH 响应功能的脂质体，可以偏酸性的细菌环境下，以酰胺键实现细菌靶向，可以在弱酸性微环境下实现电荷反转，通过静电相互作用靶向于表面带负电荷的细胞；苯硼酸修饰的阳离子脂质中的二元醇结构具有细菌靶向，辅助 pH 响应性脂质展开作用。组成纳米胶束的永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质的摩尔比例可以是 1:2:1、1.2:1.8:1、1.5:1.5:1、1.8:1.2:1、2:1:1 等，按照此比例调控纳米胶束为靶向肺部，苯硼酸修饰的阳离子脂质的比例保持不变，当永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质的摩尔比例时 2:1:1 时，得到的纳米胶束表面电荷为中性偏正，有利于吸附血清中的玻连蛋白，经血液循环达到肺部后与肺部高表达的 $\alpha v \beta 3$ 同源受体特异性结合，增加药物在肺部的富集和滞留时间，从而完成肺部靶向。

根据本公开的实施例，永久性阳离子脂质具有式 I 所示结构：

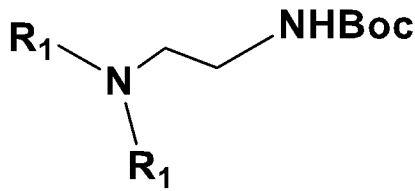


式 I，其中， R_1 为 C12~C18 的烷基，用于调控电荷，从而调控

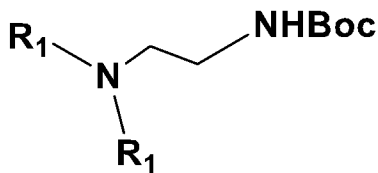
纳米胶束对血液中蛋白的吸附，使纳米胶束被调控为肺部靶向。

根据本公开的实施例，制备永久性阳离子脂质的方法如下：

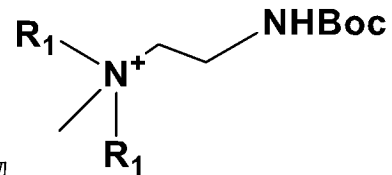
将 N-叔丁氧羰基-1, 2-乙二胺和 C12~C18 的烷基溴在碱催化剂作用下进行反应, 得到



, 其中, R_1 为 C12~C18 的烷基。



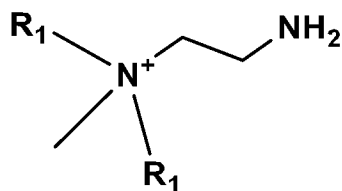
和卤代甲烷反应, 得到产物



, 其中,

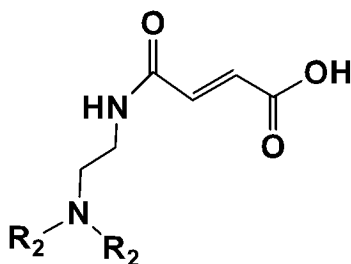
R_1 为 C12~C18 的烷基。

再将上述产物的叔丁基碳基 (Boc) 完全脱保护。得到永久性阳离子脂质



, 其中, R_1 为 C12~C18 的烷基。

根据本公开的实施例, pH 响应性脂质具有式 II 所示结构:

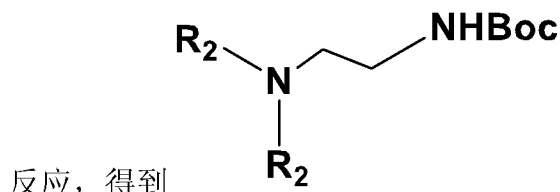


式 II, 其中, R_2 为 C12~C18 的烷基, 带有负电荷, 具有 pH 响

应功能的脂质体, 可以偏酸性的细菌环境下, 以酰胺键实现细菌靶向。

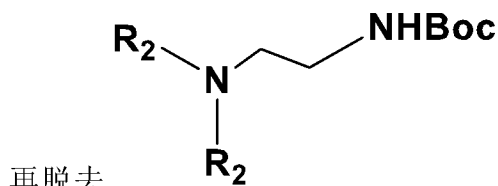
根据本公开的实施例, 制备 pH 响应性脂质的方法如下:

将叔丁基 (2-氨基乙基) 氨基甲酸酯化合物和 C12~C18 的烷基溴在碱催化剂作用下进行



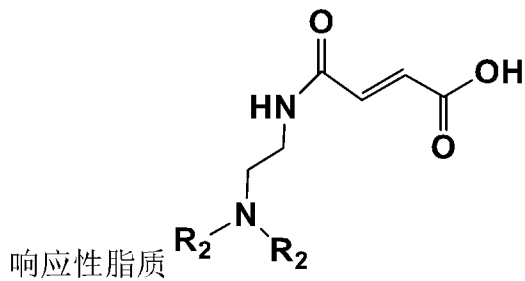
反应, 得到

, 其中, R_2 为 C12~C18 的烷基。

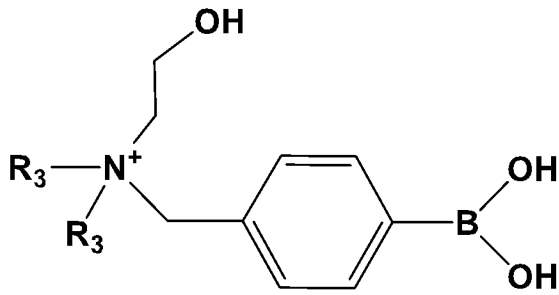


再脱去

的叔丁基碳基 (Boc), 加入马来酸酐反应得到 pH



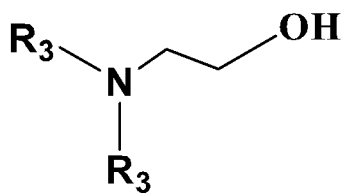
根据本公开的实施例，苯硼酸修饰的阳离子脂质具有式 III 所示结构：



饰的阳离子脂质具有中性电荷，利用硼酸基团与细菌多糖顺式-二醇之间的共价键，实现肺部细菌感染微区的精准靶向，活性氧响应的苯硼酸修饰的阳离子脂质和 pH 响应性脂质一起，可辅助 pH 响应性脂质展开作用，进一步利用细菌感染微区的微酸与活性氧刺激作用，使纳米胶束结构发生转变，快速释放出装载的抗生素。

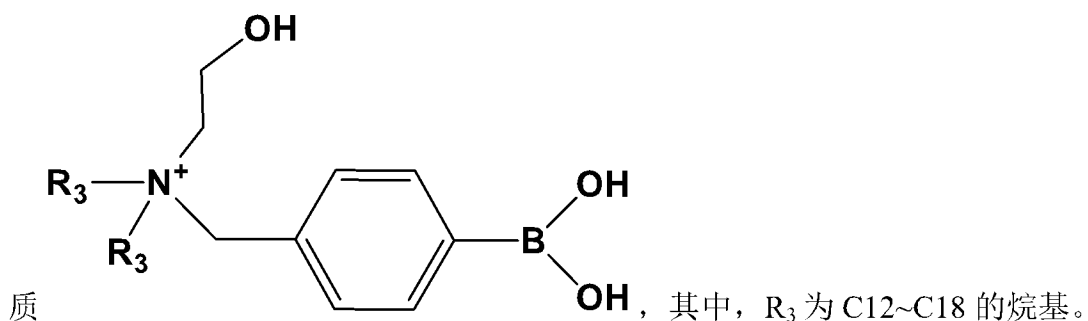
根据本公开的实施例，制备苯硼酸修饰的阳离子脂质的方法如下：

将 2-氨基乙醇和 C12~C18 的烷基溴在碱催化剂作用下进行反应，得到产物烷基乙醇



再将

与 4-(溴甲基)苯硼酸反应，得到苯硼酸修饰的阳离子脂



根据本公开的实施例，肺靶向纳米胶束的平均粒径为 95.44 ± 17.26 nm，肺靶向纳米胶束的粒径可以是 80 nm、85 nm、90 nm、93 nm、95.44 nm、98nm 等。

根据本公开的实施例，肺靶向纳米胶束的 Zeta 电位为 -21.49~+20.91 mV，例如可以是 -21.49 mV、-15 mV、-10 mV、4.7 mV、10 mV、20.91 mV 等。

作为本公开的第二个方面，提供了一种制备上述的肺靶向纳米胶束的方法，由永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质按照所需比例采用薄膜分散法制备肺靶向纳米胶束，制备步骤包括：

将永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质混合溶解到有机溶剂中，得到混合液；

除去混合液中的有机溶剂以形成脂质薄膜，并对脂质薄膜进行干燥，得到干燥后的脂质薄膜；

用超纯水水合处理干燥后的脂质薄膜，得到脂质悬浮液后，对脂质悬浮液进行水浴超声处理，形成肺靶向纳米胶束。

根据本公开的实施例，有机溶剂包括甲醇、三氯甲烷中的至少一种，用于分散溶解脂体使其充分混合。

根据本公开的实施例，除去有机溶剂的方法为减压旋蒸，减压旋蒸的转速为 80~150 rpm，例如可以是 80 rpm、100 rpm、120 rpm、150 rpm 等；减压旋蒸的温度为 30~60℃，例如可以是 30℃、40℃、50℃、60℃等。

根据本公开的实施例，真空干燥的温度为 20~30℃，例如可以是 20℃、22℃、25℃、28℃、30℃等；真空干燥的时间为 1.5~5 h，例如可以是 1.5 h、2 h、2.5 h、3 h、5 h 等。

根据本公开的实施例，超声处理的频率为 30~60 kHz，例如可以是 30 kHz、40 kHz、50 kHz、60 kHz 等，超声处理的时间为 1~10 min，例如可以是 1 min、3 min、5 min、7 min、10 min 等。

根据本公开的实施例，采用薄膜分散法制备肺靶向纳米胶束的步骤为：将永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质按照不同的摩尔比例进行称重，在玻璃瓶中混合，加入甲醇使其充分溶解；使用旋转蒸发仪在 100 rpm 和 40℃减压条件下去除甲醇溶剂，在玻璃瓶底形成一层均匀薄膜后，将玻璃瓶移出并在真空干燥箱中放置 2 小时以完全去除甲醇；将 1 mL 超纯水添加到干燥的脂质膜中，得到的脂质悬浮液，对脂质悬浮液超声处理约 3 分钟，最终得到肺靶向纳米胶束。

作为本公开的第三个方面，提供了一种药物组合物，包含上述肺靶向纳米胶束，作为药物载体。上述肺靶向纳米胶束作为药物递送载体可通过吸附血清中的玻连蛋白，经血液循环

达到肺部后与肺部高表达的 $\alpha v\beta 3$ 同源受体特异性结合，增加药物在肺部的富集和滞留时间，从而完成肺部靶向。

作为本公开的第四个方面，提供了一种上述肺靶向纳米胶束在制备用于治疗肺部疾病的药物中的应用。

根据本公开的实施例，肺部疾病为肺炎。

根据本公开的实施例，本公开构建了一种肺靶向纳米胶束，由永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质和苯硼酸修饰的阳离子脂质组成，通过调节脂质体的组成，尤其是阳离子脂质体的比例，调控纳米胶束的表面性质。随着阳离子脂质比例的变化，纳米胶束的表面电荷由负到正的变化，增加了对靶向肺部微环境蛋白的吸附，继而能够实现肺部的靶向递送，可以减少药物的使用剂量，有效降低药物治疗带来的毒副作用。

为了使本公开的目的、技术方案和优点更加的清晰明确，以下通过具体实施例结合附图对本公开的技术方案和原理做进一步阐述说明。需要注意的是，下述的具体实施例仅是作为举例说明，本公开的保护范围并不限于此。

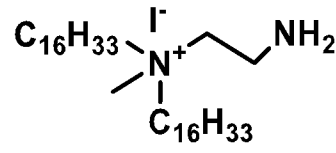
下述实施例中所用的试验材料和试剂等，如无特殊说明，均可从商业途径获得。实施例中未注明具体技术或条件者，均为常规方法，可以按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。

实施例中使用的试剂购自国药集团化学试剂有限公司及上海碧云天生物技术有限公司，实施例中使用 C57BL/6 小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司。

实施例 1

制备永久性阳离子脂质：将 5g N-叔丁氧羰基-1,2-乙二胺化合物溶解在无水乙酸乙酯中，随后加入 17.25 g, 125 mmol 的碳酸钾(K_2CO_3)和 38.125 g, 125 mmol 的 1-溴十六烷($C_{16}H_{33}Br$)。对反应混合物进行回流，用薄层色谱法监测反应过程，48 h 后，冷却混合物过滤去除碳酸钾残留物。用 200 ml 乙酸乙酯稀释后，用 200 ml 水洗涤 3 次，加入 20 ml 饱和盐水，使用无水硫酸钠干燥。在减压条件下蒸发得到粗产物，用 1% MeOH/ $CHCl_3$ (v/v) 作为洗脱液进行柱层析纯化，得到产物叔丁基 2-(二十六烷基氨基)氨基甲酸乙酯。

再将 2 g, 3.28 mmol 叔丁基 2-(二十六烷基氨基)氨基甲酸乙酯溶解于 20 ml 甲基碘中，加入 2.0099 g, 14.542 mmol 碳酸钾，在室温下搅拌 12 小时反应得到悬浮液，过滤反应混合物，在旋转蒸发器上蒸发溶剂，随后用乙醚沉淀，得到十六烷基 N-甲基十六烷基-1-胺，将 2 g 十六烷基 N-甲基十六烷基-1-胺溶解在无水二氯甲烷中，在冰上氮气下滴入 5 ml 三氟乙酸 (TFA)，将反应混合物逐渐加热至室温，搅拌 4h，确保叔丁基碳基 (BOC) 完全脱保护。通过重复 5 次加入 50 ml 氯仿后，在旋转蒸发器上进行浓缩，以完全去除三氟乙酸 (TFA)，在



高真空下去除残留溶剂，得到永久性阳离子脂质。

图 1 为本公开实施例 1 中永久性阳离子脂质和 pH 响应性脂质的合成示意图。

制备 pH 响应性脂质：将上述制备过程中得到的叔丁基 2-（二十六烷基氨基）氨基甲酸乙酯取 2.506 g, 4.115 mmol 溶解在无水二氯甲烷中，在冰上氮气下滴入 5 ml 三氟乙酸（TFA），将反应混合物逐渐加热至室温。搅拌 4 h，确保叔丁基碳基（BOC）完全脱保护，重复加入 50 ml 氯仿 5 次，然后在旋转蒸发器上进行浓缩，完全去除溶液中的三氟乙酸（TFA）。在高真空下去除残留溶剂，将产物溶于甲醇，加入等当量的马来酸酐反应得到 pH 响应性脂质。

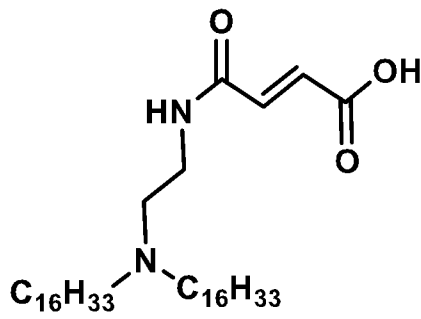
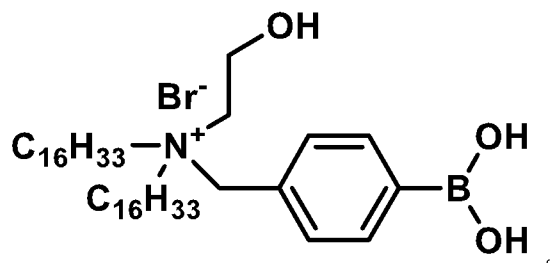


图 2 为本公开实施例 1 中苯硼酸修饰的阳离子脂质的合成示意图。

制备苯硼酸修饰的阳离子脂质：另取烧瓶加入 1.0 g, 16.2 mmol 2-氨基乙醇溶于乙酸乙酯，再加入 15 g, 49 mmol 的 1-溴十六烷和 2.76 g, 16.2 mmol 碳酸钾，在温度 85℃ 下回流 48 h，回流转速为 480 rpm。使用普通漏斗过滤碳酸钾，并进行减压蒸发去除溶剂后，将残余物用氯仿萃取，用 50 ml 水洗涤 2 次分层。将下层有机层用无水硫酸钠干燥 2 小时，过滤后旋蒸溶剂得到产物 2-二十六烷基乙醇。将产物 2-二十六烷基乙醇与 4-（溴甲基）苯硼酸以摩尔浓度比例 1.5:1 的比例在 N, N-二甲基甲酰胺中混合，并在 60℃ 下搅拌 24 小时。然后在乙



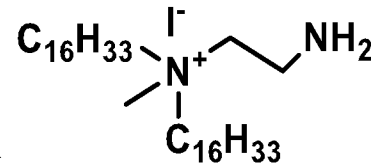
醚中沉淀、干燥得到苯硼酸修饰的阳离子脂质。

图 3 为本公开实施例 1 中永久性阳离子脂质的电喷雾电离质谱（ESI-MS）图，图 4 为本公开实施例 1 中 pH 响应性脂质的电喷雾电离质谱（ESI-MS）图，图 5 为本公开实施例 1 中苯硼酸修饰的阳离子脂质的电喷雾电离质谱（ESI-MS）图。由图 3、图 4、图 5 可以看出本公开实施例制备得到的永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质的分子

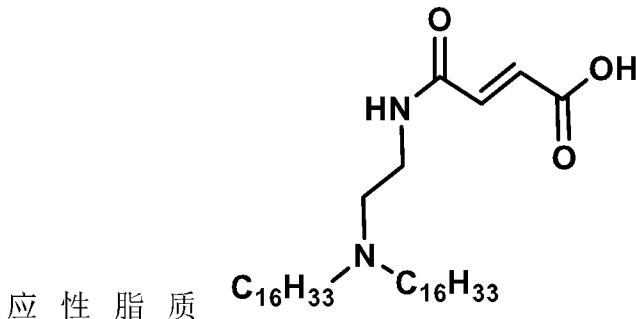
量分别为 523.59 g/mol、607.57 g/mol、644.61 g/mol。

实施例 2

采用本公开实施例 1 中制备得到的永久性阳离子脂质

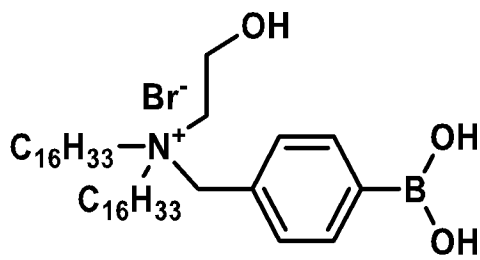


、pH 响



应性脂质

和苯硼酸修饰的阳离子脂质



，通过薄膜分散法制备肺靶向纳米胶束，分别按照以下 8 种不同比例溶解到甲醇溶液，混合在玻璃瓶中。

(1) 永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质摩尔比例为 0:3:1 (永久性阳离子脂质的摩尔含量为 0%)；

(2) 永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质摩尔比例为 0.5:2.5:1 (永久性阳离子脂质的摩尔含量为 12.5%)；

(3) 永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质摩尔比例为 1:2:1 (永久性阳离子脂质的摩尔含量为 25%)；

(4) 永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质摩尔比例为 1.5:1.5:1 (永久性阳离子脂质的摩尔含量为 37.5%)；

(5) 永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质摩尔比例为 2:1:1 (永久性阳离子脂质的摩尔含量为 50%)；

(6) 永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质摩尔比例为 2.5:0.5:1 (永久性阳离子脂质的摩尔含量为 62.5%)；

(7) 永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质摩尔比例为 3:0:1 (永

久性阳离子脂质的摩尔含量为 75%)；

(8) 永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质摩尔比例为 4:0:0 (永久性阳离子脂质的摩尔含量为 100%)。

使用旋转蒸发仪在 100 rpm 转速和 40℃ 温度减压条件下去除有机溶剂，再玻璃瓶底形成一层均匀薄膜，将玻璃瓶移出并在真空干燥箱中放置 2 小时以完全去除甲醇；再将 1 mL 超纯水添加到干燥的脂质膜中，进行水合反应得到的脂质悬浮液，对脂质悬浮液进行水浴超声处理约 3 分钟，形成不同肺靶向纳米胶束。

分别将制备得到的不同肺靶向纳米胶束悬浮液以超纯水进行适当稀释，在 25℃ 下经 90 Plus PALS 高灵敏度 Zeta 电位及粒度分析仪测定肺靶向纳米胶束的粒径分布和 Zeta 电位。

图 6 为本公开实施例 2 中肺靶向纳米胶束的粒径图，图 7 为本公开实施例 2 中肺靶向纳米胶束的 Zeta 电位图。从图中可以看出本公开实施例制备得到的肺靶向纳米胶束的平均粒径为 $95.44 \pm 17.26 \text{ nm}$ ，随着永久性阳离子脂质的添加比例增加（永久性阳离子脂质的摩尔比从 0 增加到 100%），肺靶向纳米胶束的 Zeta 电位由 -21.49~+20.91 mV 变化。

实施例 3

将实施例 2 中以永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质摩尔比例为 2:1:1（永久性阳离子脂质的摩尔含量为 50%）时，制备得到的肺靶向纳米胶束用移液枪滴 1 滴于碳膜铜网上，静置 1 分钟，让样品吸附到碳膜铜网上，用滤纸吸去多余的溶液，用 7% 乙酸氧铀水溶液染色 2 分钟，在烘箱中烘干，用透射电子显微镜 HT7650 在 100 kV 的加速电压下观察观察肺靶向纳米胶束的形貌特征，图 8 为本公开实施例 3 中肺靶向纳米胶束的透射电子显微镜（TEM）图。

并将肺靶向纳米胶束在 4℃ 条件下放置 7 天，图 9 和图 10 分别为本公开实施例 3 中肺靶向纳米胶束粒径稳定性测试图和 Zeta 电位稳定性测试图，从图中可以看出肺靶向纳米胶束在 4℃ 条件下放置 7 天其粒径分布及电势未有明显变化，具有较高稳定性。

实施例 4

以永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质按摩尔比例为 2: 1: 1 进行称重，溶解到甲醇中，再玻璃瓶中混合均匀。取溶解在乙醇浓度为 1mM DiD 荧光 25ul 混合到玻璃瓶中，使用旋转蒸发仪在 100rpm 和 40℃ 减压条件下去除有机溶剂，将玻璃瓶移出并在真空干燥箱中放置 2 小时以完全去除有机溶剂后，将 1 mL 超纯水添加到干燥的脂质膜中，将得到的脂质悬浮液，对脂质悬浮液进行水浴超声处理约 3 分钟，在 2000rpm 条件下低速离心 20min 去除游离的 DiD，取上清液，得到 DiD 荧光标记的肺靶向纳米胶束。

将 DiD 荧光标记的肺靶向纳米胶束通过尾静脉注射到 C57BL/6 健康小鼠体内，在给药后

6 小时后断颈处死小鼠，解剖出心、肝、脾、肺、肾等器官。用 IVIS Spectrum 小动物活体成像仪进行成像检测荧光强度，获得的图片用 Living Imaging software 进行分析。图 11 为本公开实施例 4 中荧光标记的肺靶向纳米胶束的成像分布图，由图 11 中的体外荧光图像显示可以看出，DiD 荧光染料标记的不同阳离子脂质摩尔比的纳米胶束在小鼠体内成像分布，包括解剖小鼠的心、肝、脾、肺、肾等脏器的荧光成像，其中，纳米胶束中的永久性阳离子脂质摩尔比 50% 时表现出明显的肺靶向性质。

另取 DiD 荧光标记的肺靶向纳米胶束通过尾静脉注射到小鼠体内，6 小时后解剖出器官，然后用 IVIS Spectrum 小动物活体成像仪进行成像检测荧光强度，确保 DiD 标记的纳米胶束在小鼠体内。做肺冷冻切片处理，使用激光共聚焦扫描显微镜（LSM880+Airyscan）直接观察肺组织中 DiD 标记的纳米胶束荧光分布。

图 12 为本公开实施例 4 中 DiD 荧光标记的肺靶向纳米胶束的激光扫描共聚焦显微镜（CLSM）图，图 12 中 DiD 表示为 DiD 荧光标记的肺靶向纳米胶束，FITC-CD31 表示为肺内皮细胞，合并图中箭头所指处可以看到 DiD 荧光标记的肺靶向纳米胶束在肺实质中。

本公开提供的肺靶向纳米胶束、制备方法及应用，通过调整永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质和苯硼酸修饰的阳离子脂质三种脂质比例组成进而调控纳米胶束的表面电荷性质，使用小鼠器官荧光成像、激光共聚焦显微镜等技术手段证实肺靶向纳米胶束可以特异性的实现肺部靶向递送，从而为实现肺炎高效治疗提供新的手段，也为实现药物在肺组织的靶向递送提供了潜在的机会，可减少药物使用剂量，有效降低药物治疗对其他组织的毒副作用，表现出巨大的临床应用前景。

以上所述本公开的具体实施方式，并不构成对本公开保护范围的限定。任何根据本公开的技术构思所作出的各种其他相应的改变与变形，均应包含在本公开权利要求的保护范围内。

权利要求

1、一种肺靶向纳米胶束，包括：

永久性阳离子脂质；

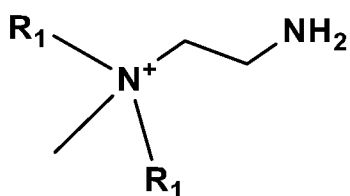
pH 响应性脂质；以及

苯硼酸修饰的阳离子脂质；

其中，所述永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质的摩尔比例为 X: 3-X: 1，其中 X=1~2，使得所述纳米胶束被调控为靶向肺部。

2、根据权利要求 1 所述的纳米胶束，其中，

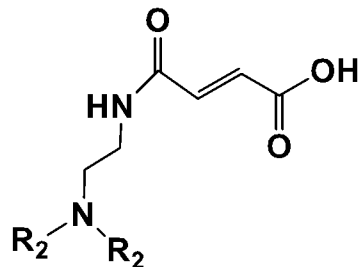
所述永久性阳离子脂质具有式 I 所示结构：



式 I，其中，R₁ 为 C12~C18 的烷基。

3、根据权利要求 1 所述的纳米胶束，其中，

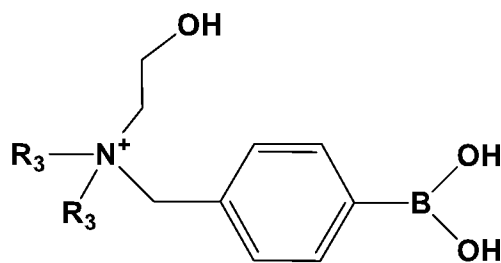
所述 pH 响应性脂质具有式 II 所示结构：



式 II，其中，R₂ 为 C12~C18 的烷基。

4、根据权利要求 1 所述的纳米胶束，其中，

所述苯硼酸修饰的阳离子脂质具有式 III 所示结构：



式 III，其中，R₃ 为 C12~C18 的烷基。

5、根据权利要求 1 所述的纳米胶束，其中，

所述肺靶向纳米胶束的平均粒径为 95.44 ± 17.26 nm。

6、根据权利要求 1 所述的纳米胶束，其中，

所述肺靶向纳米胶束的 Zeta 电位为 -21.49~+20.91mV。

7、一种制备如权利要求 1~6 中任意一项所述的肺靶向纳米胶束的方法，包括：

将永久性阳离子脂质、pH 响应性脂质、苯硼酸修饰的阳离子脂质混合溶解到有机溶剂中，得到混合液；

除去所述混合液中的所述有机溶剂以形成脂质薄膜，并对所述脂质薄膜进行干燥，得到干燥后的脂质薄膜；

用超纯水水合处理所述干燥后的脂质薄膜，得到脂质悬浮液后，对所述脂质悬浮液进行水浴超声处理，形成所述肺靶向纳米胶束。

8、根据权利要求 7 所述的方法，其中，

所述有机溶剂包括甲醇、三氯甲烷中的至少一种。

9、根据权利要求 7 所述的方法，其中，

除去所述有机溶剂的方法为减压旋蒸，所述减压旋蒸的转速为 80~150 rpm，所述减压旋蒸的温度为 30~60℃；

所述真空干燥的温度为 20~30℃，所述真空干燥的时间为 1.5~5 h；

所述超声处理的频率为 30~60 kHz，所述超声处理的时间为 1~10 min。

10、一种药物组合物，包含权利要求 1~9 任一项所述的肺靶向纳米胶束，作为药物载体。

11、一种如权利要求 1~9 任一项所述的肺靶向纳米胶束在制备用于治疗肺部疾病的药物中的应用。

12、根据权利要求 11 所述的应用，其中，

所述肺部疾病为肺炎。

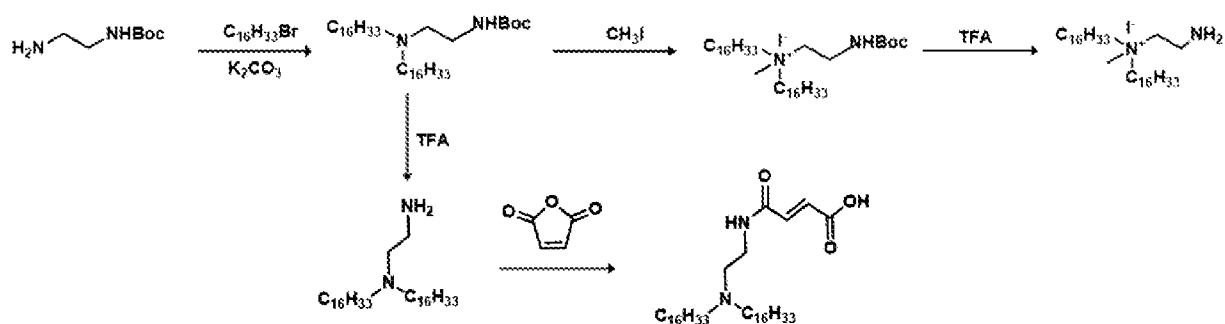


图 1

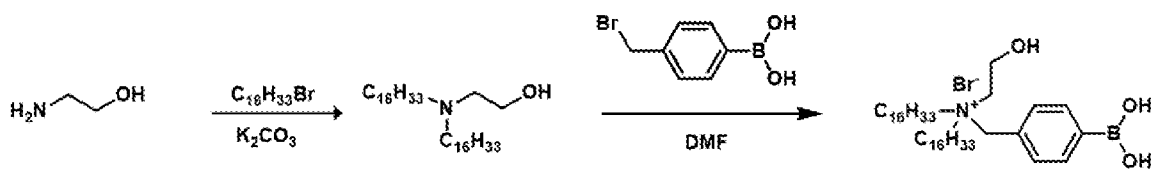


图 2

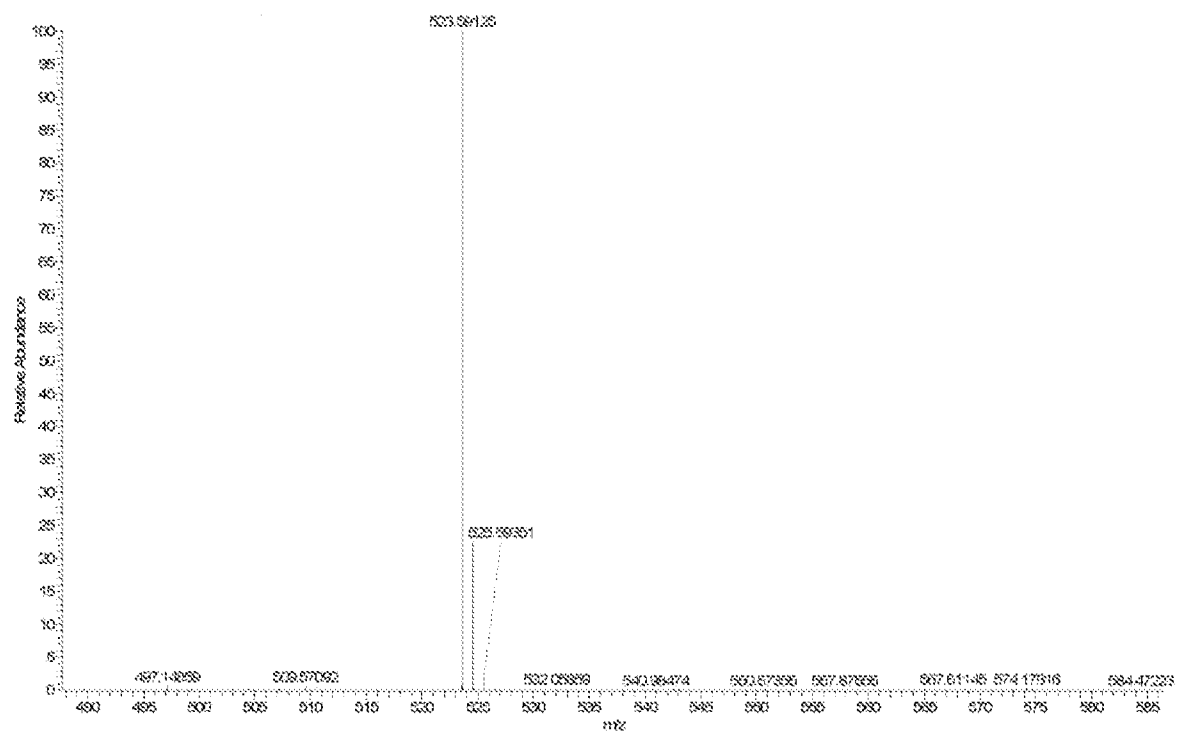


图 3

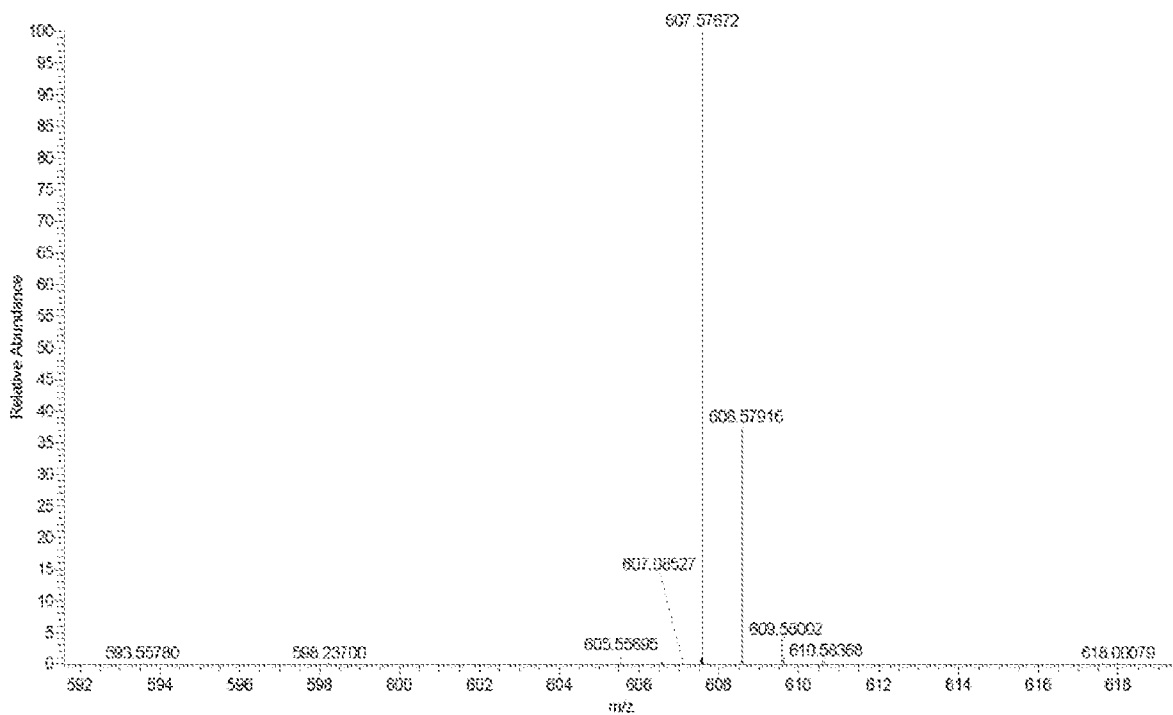


图 4

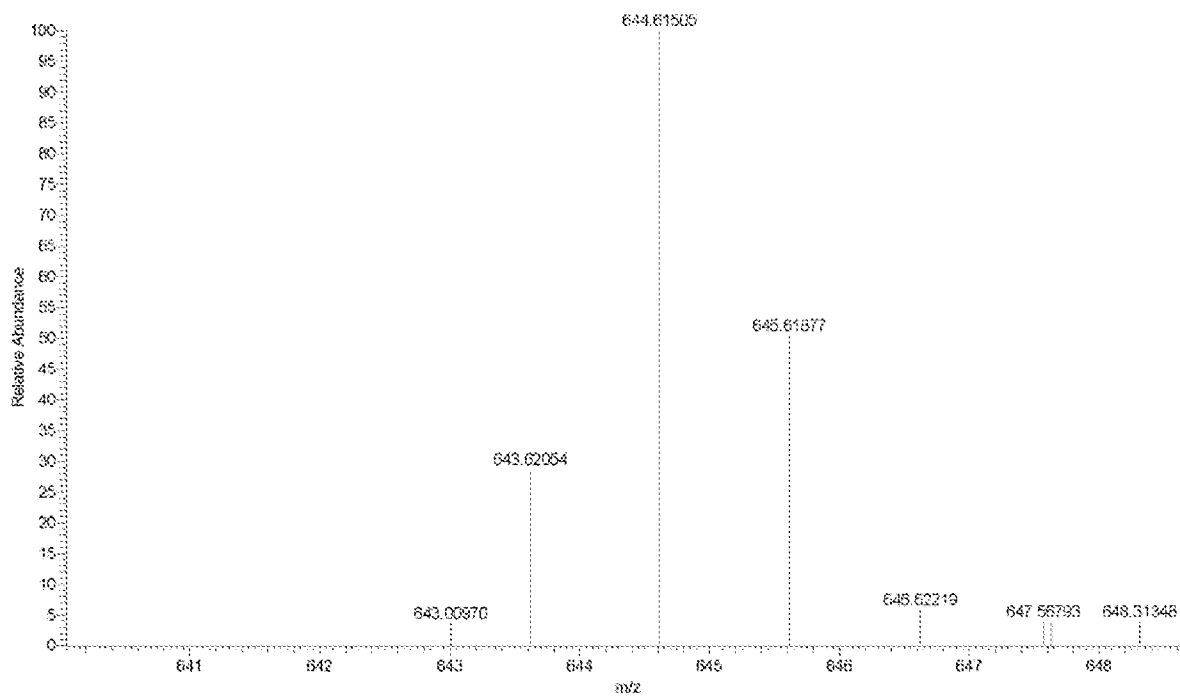


图 5

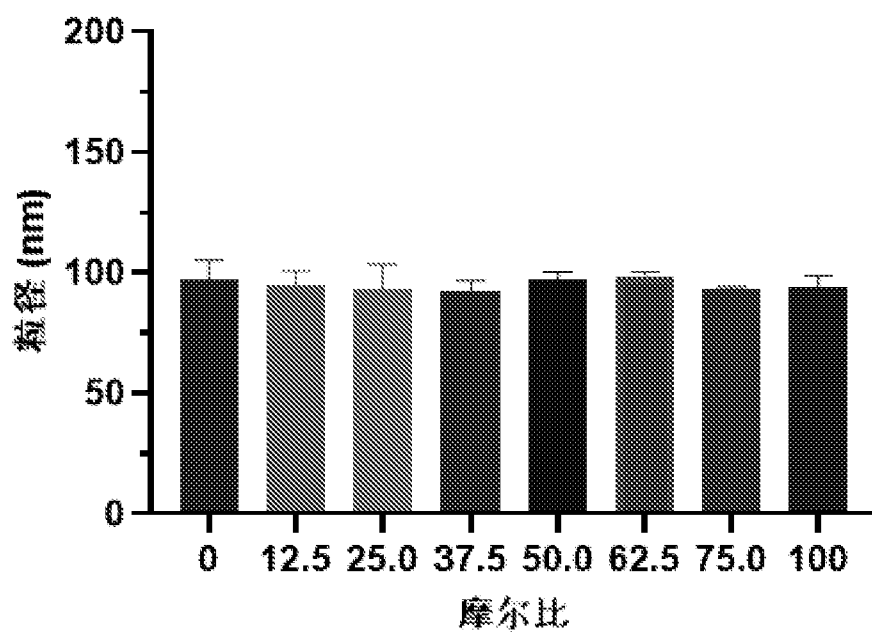


图 6

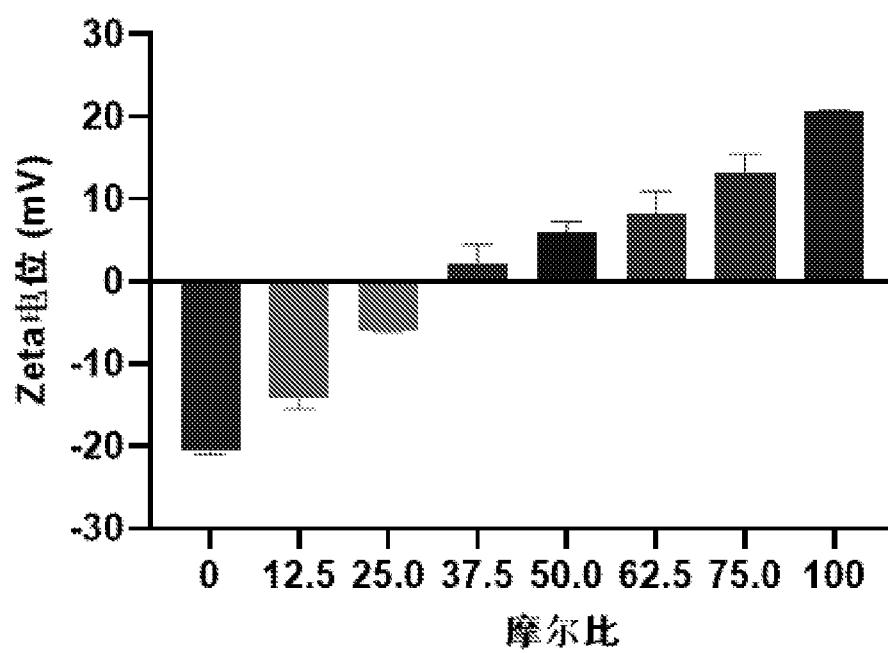


图 7

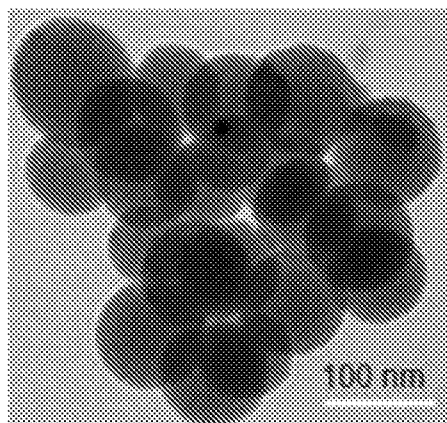


图 8

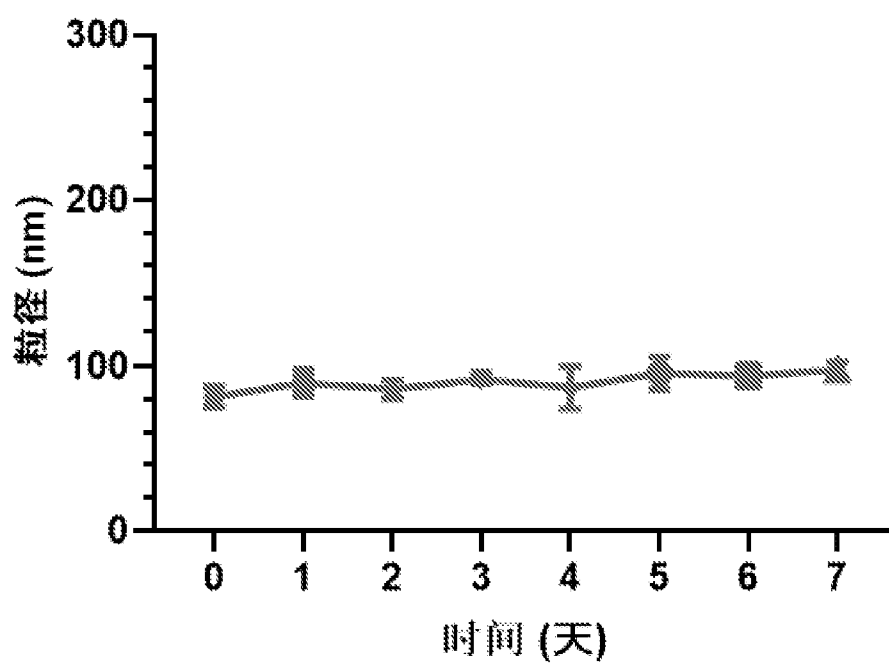


图 9

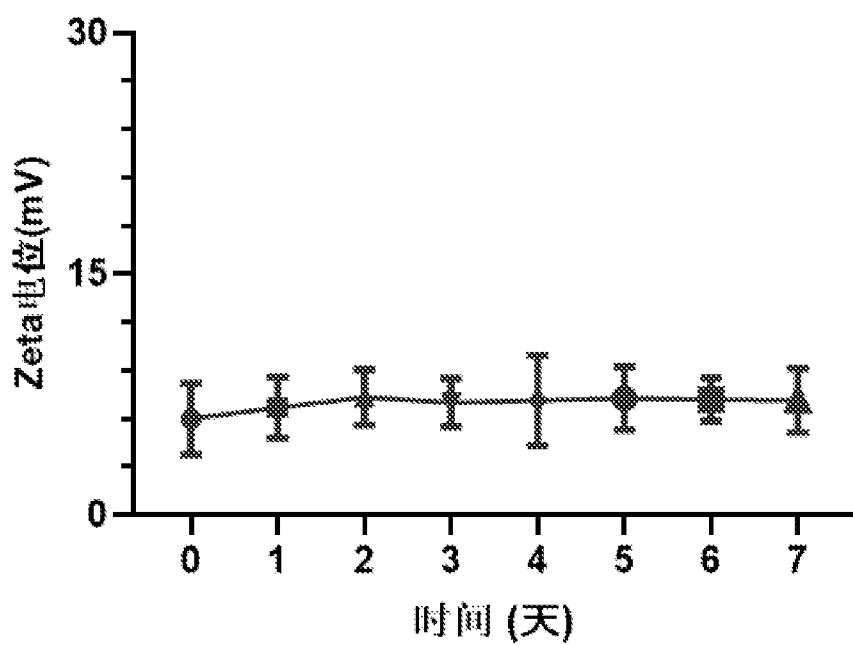


图 10

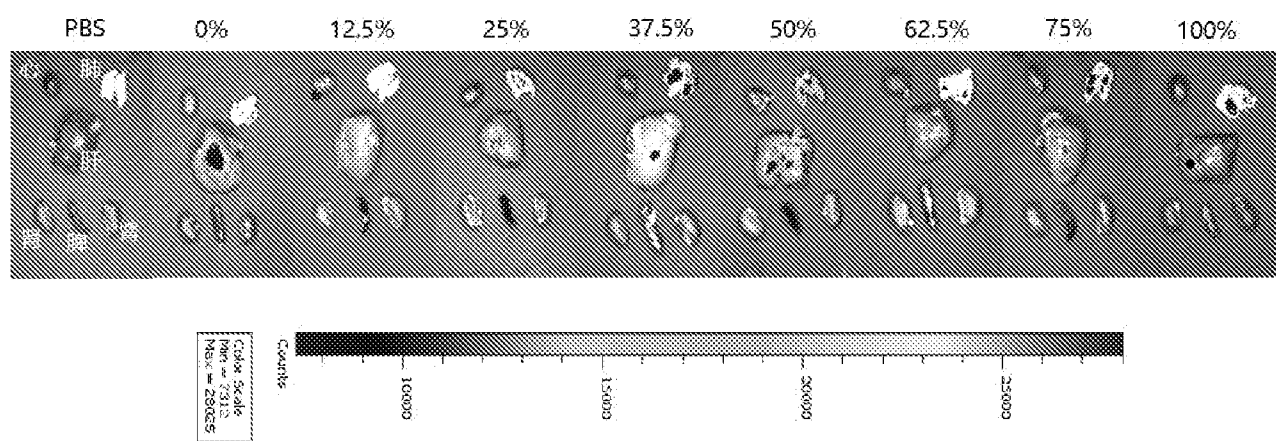


图 11

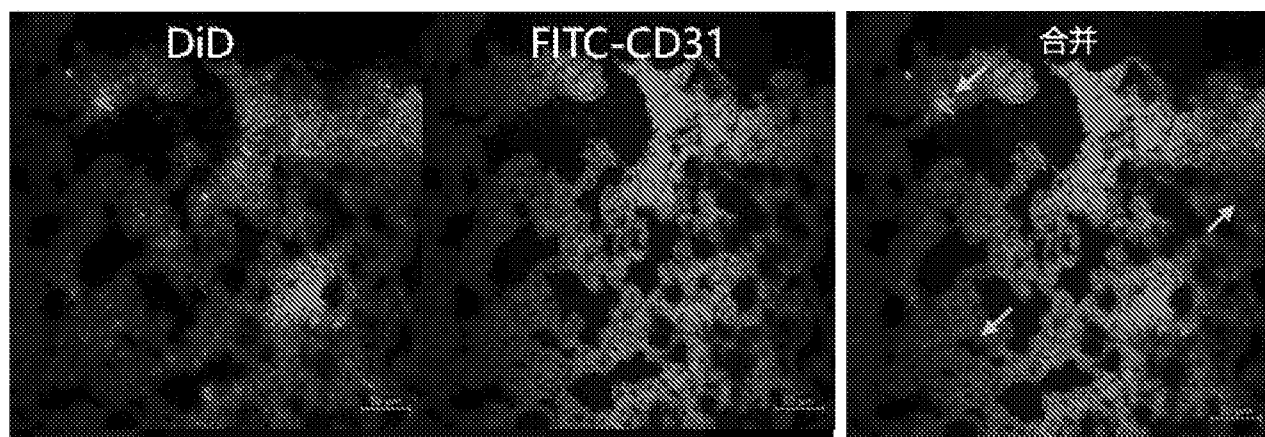


图 12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/098249

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K9/107(2006.01)i; C07C213/00(2006.01)i; A61P11/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC:A61K,C07C,A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS; CNTXT; DWPI; SIPOABS; WOTXT; USTXT; EPTXT; JPTXT; KRTXT; CNKI; ISI Web of Science; STNext; 百度学术, BAIDU SCHOLAR: 永久性阳离子脂质, 永久性正电荷脂质, 永久性阳离子磷脂, 永久性正电荷磷脂, 季铵磷脂, 季铵脂质, DOTMA, DOTAP, DOSPA, DTAB, TTAB, CTAB, DDAB, DORI, DORIE, DPRIE, DSRIE, DMRIE, DOGS, DOSC, DODMA, DODAC, DLENDMA, pH响应性脂质, pH敏感性脂质, pH不稳定性脂质, DOPE, DSPC, DSPE, DLPE, DOPC, DMPC, DPPC, DAPC, DBPC, DTPC, DLPC, POPC, DPYPE, 二十五烷酰磷脂酰胆碱, 二月桂酰磷脂酰胆碱, 胶束, 肺, 靶向, 递送, micelle, lung, target, 2128731-40-6, 1846580-44-6, 2128731-38-2, 772292-93-0, 1846580-49-1, 1846580-48-0, 1846580-45-7, 1846580-44-6, 1846580-42-4, 1813567-87-1, 1147180-95-7, 1147180-95-7, 1147085-07-1, 82838-68-4, 安徽医科大学第一附属医院, 丁圣刚, 傅玲, 霍绍虎, 聂旋, DING Shenggang, FU Ling, HUO Shaohu, NIE Xuan

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 111065377 A (LIFE TECHNOLOGIES CORP.) 24 April 2020 (2020-04-24) description, paragraphs [0001], [0029], [0146] and [0196]	1, 5-12
Y	CN 115197272 A (WENZHOU INSTITUTE, UNIVERSITY OF CHINESE ACADEMY OF SCIENCES (WENZHOU INSTITUTE OF BIOMATERIALS AND ENGINEERING)) 18 October 2022 (2022-10-18) description, paragraphs [0038] and [0045], table 1, and embodiment 1	1, 5-12
Y	AU 6137100 A (UNIVERSITY OF PITTSBURGH) 08 February 2001 (2001-02-08) description, embodiments 3 and 11	1, 5-12
A	CN 104302276 A (DEBIOTECH SA et al.) 21 January 2015 (2015-01-21) embodiment 11	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“D” document cited by the applicant in the international application

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 December 2023

Date of mailing of the international search report

20 December 2023

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,
Beijing 100088

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/098249

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 115925563 A (TSINGHUA UNIVERSITY) 07 April 2023 (2023-04-07) description, embodiments 1 and 2	1-12
A	WO 2022040641 A2 (THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM) 24 February 2022 (2022-02-24) claim 22, description, paragraph [0049], and figures 1D and 5J	1-12
A	CHEN, Yunjing et al. "Novel Cationic Lipid That Delivers siRNA and Enhances Therapeutic Effect in Lung Cancer Cells" <i>Molecular Pharmaceutics</i> , Vol. 6, No. 3, 06 March 2009 (2009-03-06), 696–705 696–705	1-12
A	MUKHERJEE K. et al. "Common Co-Lipids, in Synergy, Impart High Gene Transfer Properties to Transfection-Incompetent Cationic Lipids" <i>FEBS Letters</i> , Vol. 579, 26 January 2005 (2005-01-26), 1291–1300 1291–1300	1-12
A	CN 111065377 A (LIFE TECHNOLOGIES CORP.) 24 April 2020 (2020-04-24) description, paragraphs [0001], [0029], [0146] and [0196]	2-4, 7-12
A	CN 115197272 A (WENZHOU INSTITUTE, UNIVERSITY OF CHINESE ACADEMY OF SCIENCES (WENZHOU INSTITUTE OF BIOMATERIALS AND ENGINEERING)) 18 October 2022 (2022-10-18) description, paragraphs [0038] and [0045], table 1, and embodiment 1	2-4, 7-12
A	AU 6137100 A (UNIVERSITY OF PITTSBURGH) 08 February 2001 (2001-02-08) description, embodiments 3 and 11	2-4, 7-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/098249

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	111065377	A	24 April 2020	LT	3675826	T	11 September 2023
				CA	3073851	A1	07 March 2019
				US	2022001023	A1	06 January 2022
				JP	2020532546	A	12 November 2020
				JP	7379325	B2	14 November 2023
				US	2019060482	A1	28 February 2019
				WO	2019045897	A1	07 March 2019
				EP	3675826	A1	08 July 2020
				EP	3675826	B1	31 May 2023
				AU	2018324345	A1	05 March 2020
				JP	2023138526	A	02 October 2023
CN	115197272	A	18 October 2022	None			
AU	6137100	A	08 February 2001	AU	758303	B2	20 March 2003
CN	104302276	A	21 January 2015	WO	2013143683	A1	03 October 2013
				WO	2013143683	A8	12 December 2013
				US	2015086612	A1	26 March 2015
				US	10485884	B2	26 November 2019
				AU	2013242512	A1	28 August 2014
				AU	2013242512	A8	18 September 2014
				AU	2013242512	B2	18 January 2018
				AU	2020202152	A1	16 April 2020
				AU	2020202152	B2	22 December 2022
				JP	2018024704	A	15 February 2018
				JP	6596478	B2	23 October 2019
				LT	3427723	T	28 December 2020
				TR	201904758	T4	22 April 2019
				HK	1202060	A1	18 September 2015
				ES	2719480	T3	10 July 2019
				MX	2020011781	A	24 November 2020
				HRP	20201578	T1	05 March 2021
				BR	112014022562	A2	22 August 2017
				BR	112014022562	A8	11 October 2022
				AU	2017279565	A1	18 January 2018
				AU	2017279565	B2	30 January 2020
				US	2020085974	A1	19 March 2020
				US	11559587	B2	24 January 2023
				WO	2013143555	A1	03 October 2013
				ES	2823239	T3	06 May 2021
				HUE	044594	T2	28 November 2019
				JP	2015514076	A	18 May 2015
				JP	6279545	B2	14 February 2018
				JP	2019031571	A	28 February 2019
				JP	6832904	B2	24 February 2021
				LT	2830593	T	25 June 2019
				JP	2020114865	A	30 July 2020
				JP	7096282	B2	05 July 2022
				CA	3088428	A1	03 October 2013
				CA	3088428	C	01 August 2023
				PT	2830593	T	06 May 2019
				CA	2864253	A1	03 October 2013

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/098249

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
				CA	2864253	C	29 September 2020
				HUE	052485	T2	28 May 2021
				MX	2020011696	A	10 December 2020
				US	2023226217	A1	20 July 2023
				MX	2014011466	A	03 June 2015
				SI	3427723	T1	31 December 2020
				RS	61002	B1	30 November 2020
				PT	3427723	T	12 October 2020
				NZ	628328	A	27 May 2016
				DK	2830593	T3	23 April 2019
CN	115925563	A	07 April 2023	None			
WO	2022040641	A2	24 February 2022	US	2023320994	A1	12 October 2023
				WO	2022040641	A3	17 March 2022
				CA	3189905	A1	24 February 2022
				EP	4199934	A2	28 June 2023
				JP	2023538144	A	06 September 2023
				AU	2021327782	A1	23 March 2023

A. 主题的分类		
A61K9/107(2006.01)i; C07C213/00(2006.01)i; A61P11/00(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
IPC:A61K,C07C,A61P		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
CNABS;CNTXT;DWPI;SIPOABS;WOTXT;USTXT;EPTXT;JPTXT;KRTXT;CNKI;ISI Web of Science;STNext;百度学术: 永久性阳离子脂质, 永久性正电荷脂质, 永久性阳离子磷脂, 永久性正电荷磷脂, 季铵磷脂, 季铵脂质, DOTMA, DOTAP, DOSPA, DTAB, TTAB, CTAB, DDAB, DORI, DORIE, DPRIE, DSRIE, DMRIE, DOGS, DOSC, DODMA, DODAC, DLENDMA, pH响应性脂质, pH敏感性脂质, pH不稳定性脂质, DOPE, DSPC, DSPE, DLPE, DOPC, DMPC, DPPC, DAPC, DBPC, DTPC, DLPC, POPC, DPYPE, 二十五烷酰磷脂酰胆碱, 二月桂酰磷脂酰胆碱, 胶束, 肺, 靶向, 递送, micelle, lung, target, 2128731-40-6, 1846580-44-6, 2128731-38-2, 772292-93-0, 1846580-49-1, 1846580-48-0, 1846580-45-7, 1846580-44-6, 1846580-42-4, 1813567-87-1, 1147180-95-7, 1147180-95-7, 1147085-07-1, 82838-68-4, 安徽医科大学第一附属医院, 丁圣刚, 傅玲, 霍绍虎, 聂旋,DING Shenggang,FU Ling,HUO Shaohu,NIE Xuan		
C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 111065377 A (生命技术公司) 2020年4月24日 (2020 - 04 - 24) 说明书第[0001]、[0029]、[0146]、[0196]段	1,5-12
Y	CN 115197272 A (国科温州研究院(温州生物材料与工程研究所)) 2022年10月18日 (2022 - 10 - 18) 说明书第[0038]、[0045]段和表1实施例1	1,5-12
Y	AU 6137100 A (UNIVERSITY OF PITTSBURGH) 2001年2月8日 (2001 - 02 - 08) 说明书实施例3和11	1,5-12
A	CN 104302276 A (生物技术公司等) 2015年1月21日 (2015 - 01 - 21) 实施例11	1-12
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
★ 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “D” 申请人在国际申请中引证的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期		国际检索报告邮寄日期
2023年12月14日		2023年12月20日
ISA/CN的名称和邮寄地址		授权官员
中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088		吴立坤
		电话号码 (+86) 010-53961868

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 115925563 A (清华大学) 2023年4月7日 (2023 - 04 - 07) 说明书实施例1和2	1-12
A	WO 2022040641 A2 (The BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF TEXAS SYETEM) 2022年2月24日 (2022 - 02 - 24) 权利要求22以及说明书第[0049]段以及附图图1D、图5J	1-12
A	CHEN Y.C.等. "Novel Cationic Lipid That Delivers siRNA and Enhances Therapeutic Effect in Lung Cancer Cells" MOLECULAR PHARMACEUTICS, 第6卷, 第3期, 2009年3月6日 (2009 - 03 - 06), 69 6 - 705 696 - 705	1-12
A	MUKHERJEE K.等. "Common co-lipids, in synergy, impart high gene transfer properties to transfection-incompetent cationic lipids" FEBS Letters, 第579卷, 2005年1月26日 (2005 - 01 - 26), 1291 - 1300 1291 - 1300	1-12
A	CN 111065377 A (生命技术公司) 2020年4月24日 (2020 - 04 - 24) 说明书第[0001]、[0029]、[0146]、[0196]段	2-4,7-12
A	CN 115197272 A (国科温州研究院(温州生物材料与工程研究所)) 2022年10月18日 (2022 - 10 - 18) 说明书第[0038]、[0045]段和表1实施例1	2-4,7-12
A	AU 6137100 A (UNIVERSITY OF PITTSBURGH) 2001年2月8日 (2001 - 02 - 08) 说明书实施例3和11	2-4,7-12

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/098249

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	111065377	A	2020年4月24日	LT	3675826	T	2023年9月11日
				CA	3073851	A1	2019年3月7日
				US	2022001023	A1	2022年1月6日
				JP	2020532546	A	2020年11月12日
				JP	7379325	B2	2023年11月14日
				US	2019060482	A1	2019年2月28日
				WO	2019045897	A1	2019年3月7日
				EP	3675826	A1	2020年7月8日
				EP	3675826	B1	2023年5月31日
				AU	2018324345	A1	2020年3月5日
				JP	2023138526	A	2023年10月2日
CN	115197272	A	2022年10月18日	无			
AU	6137100	A	2001年2月8日	AU	758303	B2	2003年3月20日
CN	104302276	A	2015年1月21日	WO	2013143683	A1	2013年10月3日
				WO	2013143683	A8	2013年12月12日
				US	2015086612	A1	2015年3月26日
				US	10485884	B2	2019年11月26日
				AU	2013242512	A1	2014年8月28日
				AU	2013242512	A8	2014年9月18日
				AU	2013242512	B2	2018年1月18日
				AU	2020202152	A1	2020年4月16日
				AU	2020202152	B2	2022年12月22日
				JP	2018024704	A	2018年2月15日
				JP	6596478	B2	2019年10月23日
				LT	3427723	T	2020年12月28日
				TR	201904758	T4	2019年4月22日
				HK	1202060	A1	2015年9月18日
				ES	2719480	T3	2019年7月10日
				MX	2020011781	A	2020年11月24日
				HRP	20201578	T1	2021年3月5日
				BR	112014022562	A2	2017年8月22日
				BR	112014022562	A8	2022年10月11日
				AU	2017279565	A1	2018年1月18日
				AU	2017279565	B2	2020年1月30日
				US	2020085974	A1	2020年3月19日
				US	11559587	B2	2023年1月24日
				WO	2013143555	A1	2013年10月3日
				ES	2823239	T3	2021年5月6日
				HUE	044594	T2	2019年11月28日
				JP	2015514076	A	2015年5月18日
				JP	6279545	B2	2018年2月14日
				JP	2019031571	A	2019年2月28日
				JP	6832904	B2	2021年2月24日
				LT	2830593	T	2019年6月25日
				JP	2020114865	A	2020年7月30日
				JP	7096282	B2	2022年7月5日
				CA	3088428	A1	2013年10月3日
				CA	3088428	C	2023年8月1日
				PT	2830593	T	2019年5月6日
				CA	2864253	A1	2013年10月3日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/098249

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
				CA 2864253 C	2020年9月29日
				HUE 052485 T2	2021年5月28日
				MX 2020011696 A	2020年12月10日
				US 2023226217 A1	2023年7月20日
				MX 2014011466 A	2015年6月3日
				SI 3427723 T1	2020年12月31日
				RS 61002 B1	2020年11月30日
				PT 3427723 T	2020年10月12日
				NZ 628328 A	2016年5月27日
				DK 2830593 T3	2019年4月23日
CN 115925563 A			2023年4月7日	无	
WO 2022040641 A2			2022年2月24日	US 2023320994 A1	2023年10月12日
				WO 2022040641 A3	2022年3月17日
				CA 3189905 A1	2022年2月24日
				EP 4199934 A2	2023年6月28日
				JP 2023538144 A	2023年9月6日
				AU 2021327782 A1	2023年3月23日